

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ
СОБСТВЕННОСТИ

(19) **ВУ** (11) **21616**

(13) **С1**

(46) **2018.02.28**

(51) МПК

A 61K 31/739 (2006.01)

A 61P 1/16 (2006.01)

(54)

СПОСОБ АНТИФИБРОЗНОЙ ТЕРАПИИ РЕЦИДИВА ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С ПОСЛЕ ЭТИОТРОПНОГО ЛЕЧЕНИЯ

(21) Номер заявки: а 20150391

(22) 2015.07.27

(43) 2017.02.28

(71) Заявители: Цыркунов Владимир
Максимович; Черняк Сергей Алек-
сандрович (ВУ)

(72) Авторы: Цыркунов Владимир Мак-
симович; Черняк Сергей Александр-
ович (ВУ)

(73) Патентообладатели: Цыркунов Влади-
мир Максимович; Черняк Сергей
Александрович (ВУ)

(56) POYNARD T. et al. Gastroenterology. -
2002. - V. 122. - P. 1303-1313.
SU 1806777 A1, 1993.
UA 75714 U, 2012.
UA 66707 A, 2004.

(57)

Способ антифиброзной терапии рецидива хронического гепатита С после этиотропного лечения, заключающийся в том, что внутримышечно вводят пирогенал курсом 10 инъекций через день, начиная с разовой дозы 5 мкг и увеличивая каждую последующую разовую дозу на 5 мкг до достижения разовой дозы 30 мкг, и проводят повторные курсы инъекций через 6 и 12 месяцев.

Изобретение относится к области медицины, а именно инфектологии, и может использоваться для терапии рецидива хронического гепатита С (ХГС).

Существующие до настоящего времени способы антифиброзной терапии ХГС не являются достаточно эффективными и в большинстве случаев существенно не изменяют морфологическую картину в печени.

Аналогом способа антифиброзной терапии может быть применение препарата "Пирфенидон", который способен ингибировать синтез коллагена, хотя данный механизм его действия не исследован. У 15 пациентов с наличием HCV-ассоциированного фиброза печени соединение вводили в течение 12 месяцев (доза 1200 мг/сут.) и сравнивали биопсии печени до и после терапии. Снижение фиброза наблюдалось у 5 из 15 пациентов (30 %) к концу 12 месяцев лечения [1].

Недостатками данной терапии служат малое количество исследований у пациентов с ХГС, а также относительно небольшая частота снижения фиброза печени у данных пациентов. Кроме того, на фоне терапии пирфенидоном регистрировались значительные побочные эффекты. Данный препарат не применялся у пациентов с рецидивом ХГС после неэффективной интерферонотерапии.

Аналогом способа антифиброзной терапии является применение легалона - препарата, содержащего силибинин (наиболее активный компонент силимарина). Антифибротиче-

ский эффект легалона был подтвержден в клиническом исследовании, включающем 998 пациентов с хроническими заболеваниями печени разной этиологии (стеатоз печени, стеатогепатит и цирроз печени разной этиологии), которые в течение 12 недель получали легалон в дозе 140 мг 2-3 раза в день. При исходно повышенном уровне N-терминального пептида проколлагена III (P-III-NP) у 47 % пациентов со стеатозом печени, у 41 % со стеатогепатитом и у 26 % с ЦП через 3 месяца лечения Легалоном уровень показателя P-III-NP нормализовался [2].

Недостатком данного способа является то, что оценка степени фиброза в печени производилась по уровню P-III-NP, диагностическая точность которого ниже таковой по сравнению с гиалуриновой кислотой (ГК), используемой для этих целей. Также под воздействием препаратов расторопши у пациентов может усиливаться холестаз.

Аналогом способа антифиброзной терапии является применение стандартных и пегилированных интерферонов. Во французском исследовании участвовали 96 пациентов с ХГС, осложнившимся циррозом, получающих лечение интерферонами, которым выполнялись биопсии печени в динамике; регрессия фиброза наблюдалась у 18 пациентов [3]. В другом исследовании 153 пациента с ХГС, осложнившимся циррозом печени, получали терапию пегилированными интерферонами в сочетании с рибавирином. По результатам парных биопсий печени (до начала и после окончания терапии) в 49 % отмечалась регрессия цирроза печени [4].

Недостатком данного способа является то, что исход терапии зависит от вида препарата (наиболее эффективные препараты являются дорогостоящими, а потому недоступными для большинства пациентов), генотипа вируса гепатита С, а также степени выраженности фиброза в печени. Кроме того, повторная терапия интерферонами пациентов, у которых элиминации вируса не наблюдалось после первого курса и с рецидивом, практически не имеет эффекта.

Задача изобретения - расширение арсенала способов антифиброзной терапии рецидива ХГС.

Поставленная задача решается путем назначения пациентам с рецидивом ХГС после этиотропного лечения пирогенала внутримышечно курсом 10 инъекций, через день, начиная с разовой дозы 5 мкг и увеличивая каждую последующую разовую дозу на 5 мкг до достижения разовой дозы 30 мкг, с повторными курсами через 6 и 12 месяцев.

Пирогенал - это бактериальный липополисахарид, который используется для терапии следующих заболеваний: хронические заболевания печени, стриктуры уретры и мочеточников, хронические простатиты и уретриты, воспалительные процессы придатков матки, вторичное бесплодие, спаечная болезнь брюшной полости, ожоговая болезнь, венерические заболевания, папиллома-вирусная инфекция, травматические повреждения центральной и периферической нервной системы, вялотекущая форма туберкулеза в фазе рассасывания, увеиты, иридоциклиты, герпес-вирусная инфекция глаз, помутнение роговицы, хронические заболевания кожи, в том числе псориаз [5].

Однако из известных сведений с очевидностью не вытекает то, что он может быть использован для антифиброзной терапии у пациентов с хроническим гепатитом С, не ответивших на противовирусную терапию (ПВТ).

Способ осуществляют следующим образом. Больному с рецидивом ХГС, наступившим после лечения стандартными или пегилированными интерферонами в комбинации с рибавирином, назначают пирогенал внутримышечно курсом 10 инъекций, через день, начиная с 5 мкг (первая инъекция) и увеличивая каждую последующую разовую дозу на 5 мкг, до 30 мкг (последняя инъекция). Курс терапии пирогеналом повторяют через 6 и 12 месяцев.

Приводим доказательства возможности использования предлагаемого способа. В исследовании участвовали 14 пациентов без сопутствующей патологии, у которых после проведения курса интерферонотерапии стандартными или пегилированными интерферо-

нами в комбинации с рибавирином (согласно протоколу) развился рецидив ХГС (появление и увеличение концентрации в крови РНК HCV, активация показателя цитолиза гепатоцитов - АлАТ).

Средний возраст обследованных составил 42 года. Средняя продолжительность ХГС составила 8,2 года. Пирогенал вводился внутримышечно курсом 10 инъекций по схеме: инъекции через день в нарастающей по 5 мкг дозе на введение, от 5 до 30 мкг соответственно. Повторные курсы терапии проводились пациентам через 6 и 12 месяцев.

Для оценки результатов противофиброзного эффекта пирогенала в процессе терапии применялись специфические неинвазивные маркеры фиброза: гиалуроновая кислота (ГК) [6] и тканевой ингибитор матриксной протеиназы - 1 (ТИМП-1) [7], у части пациентов - абсолютный маркер фиброза - морфологическое исследование биоптата печени в динамике терапии. Оценка сывороточных уровней ГК и ТИМП, а также морфологическое исследование производились до начала и после окончания курса терапии пирогеналом.

Статистический анализ проводился с помощью свободно распространяемой программы "R" с использованием пакета "BSDA". С помощью G-критерия знаков для проверки направленных гипотез определялась значимость сдвига уровней ГК и ТИМП-1 до и после терапии.

Таблица 1

Динамика показателей ГК и ТИМП-1 после первого курса терапии пирогеналом

Пациенты	Уровень ГК		Динамика ГК (%)	Уровень ТИМП-1		Динамика ТИМП-1 (%)
	До 1 курса (нг/мл)	После 1 курса (нг/мл)		До 1 курса (нг/мл)	После 1 курса (нг/мл)	
К	26,5	16,3	-38,4	237,9	226,0	-5,0
Б	16,0	4,9	-69,4	265,9	260,3	-2,1
Т	16,2	10,6	-34,7	234,7	213,5	-9,0
Т	22,5	7,9	-65,1	274,6	263,2	-4,1
К	15,8	13,3	-16,0	216,1	218,4	+ 1,1
П	25,5	13,0	-49,2	265,68	253,71	-4,5
С	13,7	3,6	-73,7	258,2	249,0	-3,5
Х	19,5	16,8	-13,5	253,6	250,2	-1,3
Ю	22,3	17,4	-22,3	244,7	276,9	+ 13,1
Г	16,9	11,4	-33,0	244,5	256,8	+ 5,0
В	12,5	24,1	+ 92,8	259,6	258,7	-0,3
Л	19,0	17,4	-8,4	267,0	218,9	-18,6
Г	33,2	67,5	+ 103,1	267,2	259,6	-2,9
Л	16,8	25,5	+ 51,8	264,4	235,2	-11,0
М средн.	19,7	17,8	-9,6	253,9	245,7	-3,2

Примечание: ГК - гиалуроновая кислота; ТИМП-1 - тканевой ингибитор матриксной протеиназы-1.

Исходя из данных, представленных в табл. 1, сывороточные уровни ГК и ТИМП-1 после терапии среди большинства обследованных пациентов достоверно снизились ($p = 0,029$). При этом снижение уровня ГК произошло у 11 (78,6 %) из 14 пациентов. Уровень ТИМП-1 также снизился у 11 (78,6 %) из 14 обследованных пациентов.

Таблица 2

Динамика показателей ГК и ТИМП-1 после двух курсов терапии пирогедалом

Пациенты	Уровень ГК		Динамика ГК (%)	Уровень ТИМП-1		Динамика ТИМП-1 (%)
	До 1 курса (нг/мл)	После 2 курсов (нг/мл)		До 1 курса (нг/мл)	После 2 курсов (нг/мл)	
Ю	22,3	10,6	-52,7	244,7	214,3	-12,4
К	15,8	7,9	-50,2	216,1	199,0	-7,9
Б	16,0	4,1	-74	265,9	237,3	-10,7
Г	16,9	3,8	-77,4	244,5	202,2	-17,3
П	25,5	9,7	-70	265,7	249,4	-6,1
Т	16,2	7,3	-54,9	234,7	264,5	+ 11,2
Л	19,0	14,4	-24,2	270,0	253,9	-5,6
В	12,5	14,6	+ 16,5	259,6	252,1	-2,9
Т	16,2	7,3	-55,1	234,7	264,5	+ 12,7
Г	33,2	85,7	+ 158,1	267,2	223,6	-16,3
Л	16,8	12,7	-24,4	264,6	235,2	-11,1
М средн.	19,1	16,2	-15,2	251,6	236,0	-6,2

Примечание: ГК - гиалуроновая кислота; ТИМП-1 - тканевой ингибитор матриксной протеиназы-1.

Как видно из результатов, представленных в табл. 2, у большинства обследованных пациентов после двух курсов терапии пирогедалом произошло достоверное снижение ($p = 0,033$) уровней ГК и ТИМП-1. Данная динамика наблюдалась у 9 из 11 (81,8 %) пациентов по обоим показателям.

Таблица 3

Динамика показателей ГК и ТИМП-1 после трех курсов терапии пирогедалом

Пациент	Уровень ГК		Динамика ГК (%)	Уровень ТИМП-1		Динамика ТИМП-1 (%)
	До 1 курса (нг/мл)	После 3 курсов (нг/мл)		До 1 курса (нг/мл)	После 3 курсов (нг/мл)	
В	12,5	6,8	-45,6	259,6	244,7	-5,7
Б	16,0	9,1	-43,1	265,9	237,2	-10,8
Л	19,0	7,3	-61,6	269,0	236,4	-12,1
Г	33,2	32,0	-3,8	267,2	239,5	-10,4
Л	16,8	16,2	-3,6	270,5	235,2	-13,0
М средн.	19,5	14,3	-26,7	266,4	238,6	-10,4

Примечание: ГК - гиалуроновая кислота; ТИМП-1 - тканевой ингибитор матриксной протеиназы-1.

Исходя из данных, представленных в табл. 3, после третьего курса также наблюдалось достоверное снижение ($p = 0,031$) сыровоточных уровней ГК и ТИМП-1 у всех (100 %) обследованных пациентов.

Таким образом, на фоне введения пирогедала в абсолютном большинстве случаев у обследованных пациентов наблюдалась динамика обоих показателей, свидетельствующая об угнетении процессов фиброгенеза и активации механизмов фибролиза в печени, причем изменения после первого, второго и третьего курсов были достоверными.

На фиг. 1 показана микрофотография биоптата печени, на которой имеются признаки формирования неполного септального цирроза печени, с тенденцией к формированию ложных долек (а).

На фиг. 2 показана микрофотография биоптата печени, на которой признаки перестройки строения печени с тенденцией к формированию ложных долек не определяются.

На фиг. 3 показана микрофотография биоптата печени, где наблюдается выраженный фиброз с образованием септ (а).

На фиг. 4 показана микрофотография биоптата печени, где уменьшилось количество септ и они стали тоньше (а).

На фиг. 5 показана микрофотография биоптата печени со следующими изменениями: а) перипортальный фиброз, б) активированная клетка Ито, в) разрушающийся нейтрофил в просвете синусоида.

На фиг. 6 показана микрофотография биоптата печени, где отмечены: а) группа многоядерных гепатоцитов, б) клетка Ито в состоянии покоя. Перипортальный фиброз в биоптате отсутствует.

На фиг. 7 показана микрофотография биоптата печени с отмеченным фиброзом по ходу синусоидов (а).

На фиг. 8 показана микрофотография биоптата печени, где в 3-4 раза увеличилось количество многоядерных гепатоцитов (а).

Приводим конкретные примеры, подтверждающие эффективность использования предлагаемого способа.

Пример 1.

Пациент В., 29 лет, мужчина, стаж ХГС 5 лет, генотип 3а. Получал стандартный интерферон альфа 2b в течение 10 месяцев. Вирус не определялся через 3, 6, 9 месяцев терапии. Через 6 месяцев после отмены (ПВТ) РНК HCV вновь была выявлена. Выполнена биопсия печени (фиг. 1). Патоморфологическое заключение: имеются признаки формирования неполного септального цирроза печени, с тенденцией к формированию ложных долек (а). Изменения характерны для ХГС умеренной степени активности, 3 стадии хронизации с начальными признаками формирования неполного септального цирроза.

В течение года пациенту В. было проведено три курса терапии пирогеналом, затем выполнено повторное гистологическое исследование печени (фиг. 2). Патоморфологическое заключение: изменения характерны для ХГС умеренной степени активности, 3 стадии хронизации. По сравнению с предыдущей биопсией: 1) степень выраженности альтерации не изменилась; по-прежнему доминирует жировая дистрофия, носящая диффузный характер; 2) степень выраженности воспалительных реакций: воспаление неравномерно выражено в разных участках биоптата (в первой биопсии эта особенность не прослеживалась); 3) склеротические изменения уменьшились, хотя определяются множественные септы; признаки перестройки строения печени с тенденцией к формированию ложных долек в данной биопсии не определяются.

Мониторинг маркеров фиброза: у пациента В. после трех курсов терапии пирогеналом уровень ГК снизился на 45,6 % (с 12,5 до 6,8 г/мл), уровень ТИМП-1 снизился на 5,7 % (с 259,6 до 244,7 нг/мл).

Пример 2.

Пациент К., 21 год, мужчина. Болеет ХГС в течение 17 лет. Генотип 3а/3в. Получал стандартный интерферон альфа 2b в течение 9 месяцев. РНК ВГС определялась в крови. Выполнена биопсия печени до начала терапии пирогеналом (фиг. 3, 5, 7). Патоморфологическое заключение: ХГС умеренная степень активности, 4 стадия хронизации с формированием неполного септального цирроза печени.

Через 1 год, в течение которого пациенту были проведены три курса терапии пирогеналом, выполнено повторное гистологическое исследование печени (фиг. 4, 6, 8).

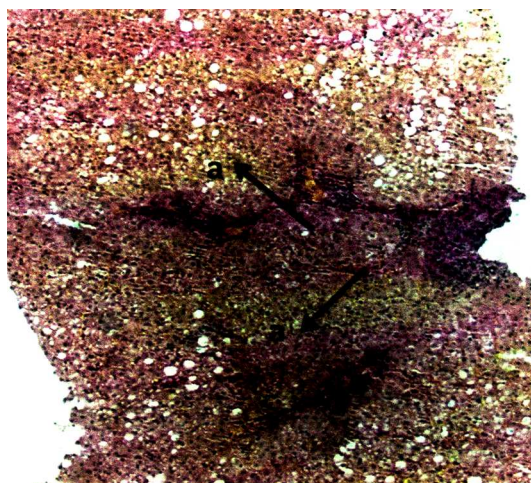
Патоморфологическое заключение: ХГС умеренная степень активности, 3 стадия хронизации с выраженными дисрегенераторными изменениями гепатоцитов, преимущественно перипортальных зон, с тенденцией к формированию неполного септального цирроза печени. По сравнению с предыдущей биопсией: уменьшилась степень выраженности воспалительной инфильтрации в портальных трактах, но увеличилась внутри долек; уменьшилось количество септ, они стали тоньше; в 3-4 раза увеличилось количество многоядерных гепатоцитов, что свидетельствует о стимулировании процессов регенерации.

Анализ изменений морфологической картины печени на фоне введения пирогенала свидетельствует о наличии антифиброзного эффекта данного БЛПС, а также о стимулировании регенераторных механизмов в гепатоцитах в ответ на применение данного препарата.

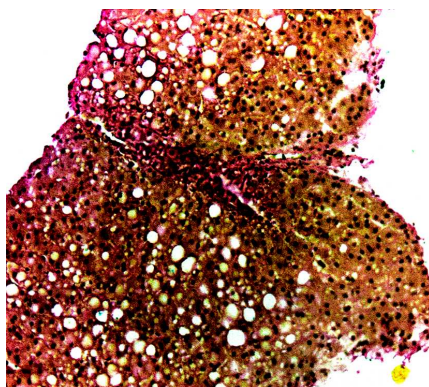
Таким образом, предлагаемый способ действительно может использоваться для антифиброзной терапии рецидива ХГС.

Источники информации:

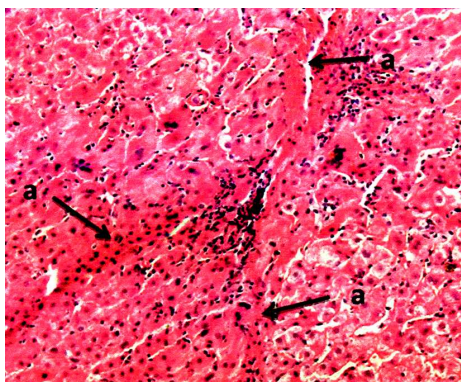
1. Armendariz-Borunda J. et al. A pilot study in patients with established advanced liver fibrosis using pirfenidone // Gut. - 2006. - Vol. 55. - No. 11. - P. 1663-1665.
2. Schuppan D. et al. Verminderung der Fibrosierungs aktivität durch Legalon bei chronischen Lebererkrankungen // Z. Allg. Med. - 1998. - Vol. 74. - P. 577-584.
3. Mallet V. et al. Brief communication: the relationship of regression of cirrhosis to outcome in chronic hepatitis C // Ann. Intern. Med. - 2008. - Vol. 149. - P. 399-403.
4. Poynard T. et al. Impact of pegylated interferon α -2b and ribavirin on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C // Gastroenterology. - 2002. - Vol. 122. - P. 1303-1313.
5. Пирогенал // Энциклопедия лекарств и товаров аптечного ассортимента [Электронный ресурс]. - 2015. - Режим доступа: http://www.rlsnet.ru/tn_index_id_4968.htm. - Дата доступа: 25.06.2015.
6. McHutchison J. et al. Measurement of serum hyaluronic acid in patients with chronic hepatitis C and its relationship to liver histology. Consensus Interferon Study Group // J. Gastroenterol. Hepatol. - 2000. - Vol. 15. - No. 8. - P. 945-51.
7. Liu T. et al. Molecular serum markers of liver fibrosis // Biomark Insights. - 2012. - Vol. 7. - P. 105-117.



Фиг. 1



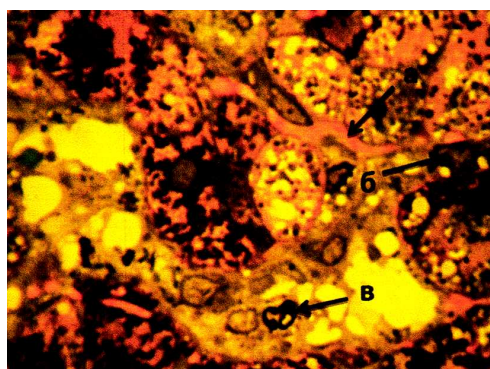
Фиг. 2



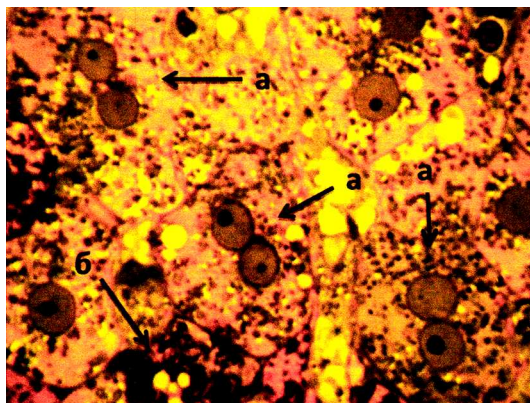
Фиг. 3



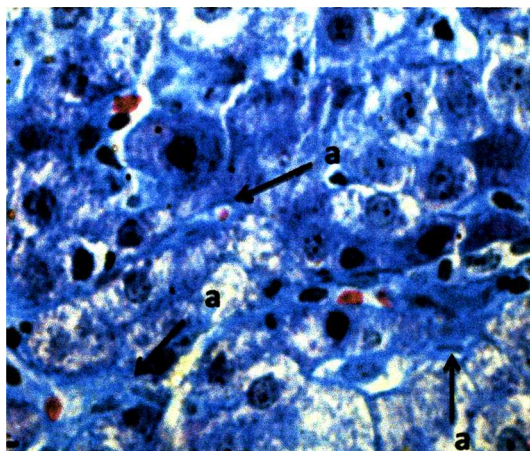
Фиг. 4



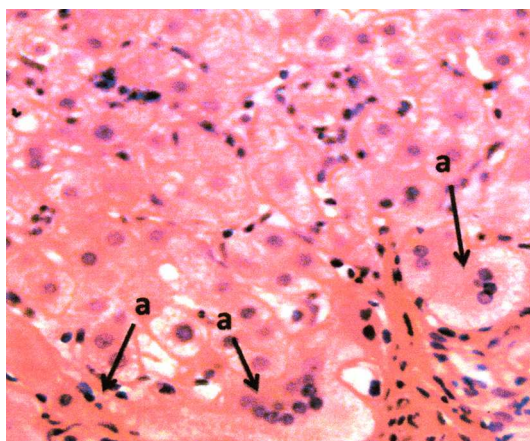
Фиг. 5



Фиг. 6



Фиг. 7



Фиг. 8